

## Studies on expression and functions of two kinds of male-enhanced antigens in mammals

著者	Kondo Masaaki
内容記述	Thesis (Ph. D. in Science)--University of Tsukuba, (B), no. 1347, 1998.1.31
発行年	1998
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2241/5297">http://hdl.handle.net/2241/5297</a>

氏 名(本 籍)	近 藤 雅 昭 (茨 城 県)
学 位 の 種 類	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	博 乙 第 1,347 号
学位授与年月日	平成 10 年 1 月 31 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
審 査 研 究 科	生 物 科 学 研 究 科
学 位 論 文 題 目	Studies on Expression and Functions of Two Kinds of Male-Enhanced Antigens in Mammals (哺乳類における二種の雄優位発現抗原の発現と機能に関する研究)
主 査	筑波大学教授 理学博士 平 林 民 雄
副 査	筑波大学教授 理学博士 小 熊 讓
副 査	筑波大学教授 理学博士 山 根 國 男
副 査	筑波大学助教授 理学博士 沼 田 治
副 査	筑波大学教授 理学博士 梶 原 良 道

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

畜産業界において、家畜の雌雄を産み分けることは重要な課題であり、これが出来れば乳牛では雌牛を肉牛では肥育高率の高い雄牛を計画的に生産することが可能となる。雄優位発現抗原 Male-enhanced antigen (Mea) はこの雌雄判別に有効に利用できる可能性がある。雄優位発現抗原には Mea-1 と Mea-2 の 2 種数が有り、両者ともに精巣で発現していることは明らかになっていたが、その発現時期、局在、機能、H-Y 抗原との関係等については明らかではなかった。そこで Mea-1 および Mea-2 遺伝子を単離し、ウシやマウスを用いてその基礎的研究を行った。

単離したウシ Mea-1 cDNA は、報告されているヒトおよびマウスと高い相同性を示し、その発現は精巣で最も強く、また発現量は少ないものの卵巣、肝臓、心臓でも検出された。ウシを体外受精により繁殖させる場合、受精から胚盤胞までを対外でおこない、その後、仮親の子宮に戻す。したがって、受精後から胚盤胞までの間に性判別する必要がある。RT-PCR によりウシ初期胚での発現での発現を調べたところ、8 細胞期以降でその発現が観察され、Mea-1 を発現していない胚は全て雌胚であったことから、ウシ雌胚の判別に利用できると考えられた。またゲノム遺伝子を単離し、そのプロモーター領域を解析したところ、BALB/c、3T3 などの細胞で転写開始点の上流 300~400 bp にプロモーター活性を示した。このことは体細胞では Mea-1 が発現していることとよく一致する。一方で精巣内では、第一精母細胞から精子細胞の間で発現が示され、免疫組織化学染色では Mea-1 蛋白質は精子細胞にのみ局在した。このことから Mea-1 には、転写後の調節機構が存在すると推察され、精子形成後期に機能していると考えられた。しかし、Mea-1 はその存在様式などから、これまでに報告されている H-Y 抗原とは明らかに区別された。

次にマウス Mea-2 遺伝子を単離し、その全長を初めて明らかにした。Mea-2 cDNA には 3975 bp におよぶ長い ORF が存在し、1325 aa、150 kDa の蛋白質をコードしていた。またヒトのゴルジ体の構造蛋白質である golgin-160 とアミノ酸レベルで 83% の相同性がみられた。golgin-160 はゴルジ体に対する自己免疫抗体を持つ患者の血清を用いて得られた遺伝子断片 (1.6 kb) で、その全長は明らかでないがウエスタンブロットでは 160 kDa の蛋白質が検出されている。このことから Mea-2 は golgin-160 のマウスホモログであると考えられた。さら

に Mea-2は精巣内では精子細胞で特異的に発現しており、Mea-2破損をホモに持つマウスでは精子細胞以降の細胞が検出されず不妊であった。精巣内ではアクロソームがゴルジ体より形成されることから、Mea-2は精子完成の時期、特にアクロソーム形成に関与していることが推察された。Mea-2がH-Y抗体を誘導する可能性は残されているが、まだ証明に至っていない。これらの成果は、分子生物学的知見からはまだ未解明の部分が多い精子形成機構において、新しい蛋白質の関与を示した点で重要であると考えられる。また Mea-2においては、精子形成のみならずゴルジ体および自己免疫疾患への関与も示唆され、精子形成機構および自己免疫疾患の解析を進める上で非常に有用な知見であるといえる。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、哺乳類の雄精巣に特に多く発現されている2つの抗原を遺伝子レベルから解析し、その1つ、Mea-1は第一精母細胞から精子細胞の間で発現され、精子の成熟に重要な働きをしていること、もう1つのMea-2は精子完成の時期、特にアクロソーム形成に関与していることを示したものである。これらの結果とその基礎研究の成果は哺乳類、特にウシの初期発生における性判定に役立ち、基礎研究が畜産学に応用できるすばらしい研究成果であると評価できる。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。